

the tumor enhancer is understandable because the mammalian epidermis is not a water-absorbing organ. Most probably the rôle of the acetone is to break down the absorption barrier of the skin and to cause disturbances at cellular lipid/protein interfaces. Therefore Tween 60-type tumor enhancers, as such as well as in aqueous solution (association colloids), are required in large doses and/or in frequent applications if a strong tumor response is to be obtained in resistant mouse strains.

Supported by grant C-2930 from the National Cancer Institute, National Institutes of Health, U.S. Public Health Service. A personal grant has been received from the Sigrid Jusélius' Stiftelse, Helsinki, Finland.

Department of Pathology (Chief: Prof. KAI SETÄLÄ, M.D.), University of Helsinki, Helsinki, Finland

KAI SETÄLÄ, EINO ERKKI NISKANEN, LAURI MERENMIES, LEO STJERNVALL, MAURI NYHOLM and YRJÖ AHO

Eingegangen am 25. August 1960

¹⁾ SETÄLÄ, K., Y. AHO and L. MERENMIES: *Naturwissenschaften* 46, 328 (1959). — ²⁾ SETÄLÄ, K.: *Neuere Cocarcinogene*. Abh. dtsh. Akad. Wiss. (in press). — ³⁾ SETÄLÄ, K., P. HOLSTI and S. LUNDBOM: *Acta Un. int. contra cancer* 13, 280—289 (1957). — ⁴⁾ MERENMIES, L.: *Acta pathol. microbiol. scand. Suppl.* 130, 1—107 (1959). — ⁵⁾ HOLSTI, P.: *Acta pathol. microbiol. scand.* 48, 316—318 (1960).

Attempts to Inhibit In Vitro Tissue Anaphylaxis by Reducing the Histamine Content with Histamine Liberator 48/80

It was shown¹⁾ that the reinjection of the specific antigen into sensitized guinea pigs exposed previously to different types of stress does not elicit anaphylactic shock. This inhibitory influence of stress on the anaphylactic shock is probably due to increased production of an endogenous antihistamine, the "resistin"²⁾. In a previous work³⁾ we established that the refractory state developing after shock due to distilled water can, at least partly, be explained, by this endogen antihistamine the "resistin", because the histamine content of tissues after distilled water shock was not reduced, consequently it could not be made responsible for the developing refractoriness. It seemed to be interesting to investigate whether the refractoriness toward the specific antigen does develop in a state when the histamine content of the tissues of the sensitized animal is depleted to a greater degree without any possibility of increased production of the endogenous antihistamine (resistin).

We expected to get answer to this question by in vitro experiments eliciting the organ anaphylaxis of a sensitized guinea pig's ileum after the histamine content of it has been depleted, as far as possible, by histamine liberator (Compound 48/80).

The experiments were carried out in a Magnus-apparatus on 2 cm long strips of guinea pig's ileum, sensitized with cattle's serum three weeks earlier. After the histamine sensitivity of the gut was established 5 mg of Compound 48/80 was added to the Tyrode bath (about 14 ml). In our preliminary experiments we showed that greater doses have no greater effect but they abolish the histamine sensitivity of the small intestine. Then, after washing out the ileum strip, 1 ml of 1:10 dilution of cattle's serum was put into the bath to elicit the organ anaphylaxis. In other experiments we determined the histamine content of the ileum strips of the sensitized guinea pigs before and after treatment with Compound 48/80 and after organ anaphylaxis, using the method of BARSOUM and GADDUM⁴⁾ modified by CODE⁵⁾.

As shown by Fig. 1 it was possible to elicit the anaphylactic contraction of the gut even after 2 doses of 48/80, of which the second one could not liberate more histamine. The actual size of the anaphylactic contraction after histamine liberator is smaller than the anaphylactic contraction of a control strip, but considering the reduced histamine sensitivity of the gut after 48/80 it does not seem to be altered.

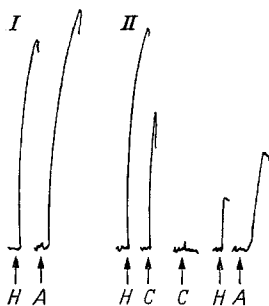


Fig. 1. Contractions of sensitized ileum strips with and without 48/80 treatment. I anaphylactic contraction of control ileum strip. II anaphylactic contraction of ileum strip with reduced histamine content due to 48/80. H histamine 2 µg. A antigen. C 48/80 5 mg

Our results are in complete agreement with those of MONGAR and SCHILD^{6a)}. The histamine determinations showed a reduction of the tissue histamine to about 55 per cent in the case of histamine liberator treatment, and a reduction to about 75 per cent after tissue anaphylaxis. However the tissue histamine remained almost unchanged when the tissue anaphylaxis was elicited after the histamine liberator treatment. Values correspond to about 90 per cent of the values after 48/80 (see Table).

Table. Histamine estimations in ileum strips of sensitized guinea pigs after in vitro anaphylaxis, histamine liberator 48/80 and both

Treatment	Number of estimations	Histamine values µg/g tissue
Non	12	13.3 ± 0.77*)
48/48	13	7.3 ± 0.51
Antigen	11	9.8 ± 0.56
48/80 and antigen	10	6.6 ± 0.63

*) Standard error of the mean.

The results of our experiments confirm the suggestion that the mode of action of chemical histamine liberators is different from that of anaphylaxis^{6b, c)}. These results could be interpreted in the way, that the reduction of tissue histamine content itself does not inhibit the anaphylactic reaction in the absence of resistin, which seems to be responsible for the refractoriness against the antigen-antibody reaction in vivo experiments¹⁾.

Institute of Pathophysiology, Medical University of Szeged, Szeged, Hungary

A. RÉDEI and S. KARÁDY

Eingegangen am 19. Juli 1960

¹⁾ KARÁDY, S., H. SELYE and J. S. L. BROWNE: *J. Immunology* 35, 335 (1938). — ²⁾ KARÁDY, S., A. KOVÁCS and G. PETRI: *Arch. int. Pharmacodynam. Thérap.* 83, 259 (1950). — ³⁾ RÉDEI, A., S. KARÁDY and M. A. DÁVID: *Exp. Cell. Res.* 15, 154 (1958). — ⁴⁾ BARSOUM, G. S., and J. H. GADDUM: *J. Physiol. [London]* 85, 1 (1935). — ⁵⁾ CODE, C. F.: *J. Physiol. [London]* 89, 257 (1937). — ⁶⁾ MONGAR, J. L., and H. O. SCHILD: *J. Physiol. [London]* a) 118, 461 (1952); b) 135, 301 (1957); c) *Nature [London]* 176, 163 (1955). — ⁷⁾ MOUSSATCHÉ, H., and A. P. DANON: *Naturwissenschaften* 44, a) 330, b) 637 (1957).

Über die durch Stress bedingte Nekrosesistenz des Herzens. Ein Beitrag zum Phänomen der „gekreuzten Resistenz“

Im Laufe unserer Untersuchungen über das allgemeine Adaptationssyndrom konnte festgestellt werden, daß Vorbehandlung mit einem gewissen Stressor die Resistenz nicht nur gegen diesen selbst, sondern auch gegen andere schädliche Agenzien erhöhen kann. So kann z.B. bei Ratten Vorbehandlung mit den verschiedensten Stressoren (Hitze, Kälte, Muskelarbeit, Trauma) die normalerweise durch intravenöse Injektion von Histamin hervorruftbare Entzündung des Coecums^{1a)}, die Erzeugung von Lungenödemen mit Adrenalin^{1b)} oder das Hervorrufen der Anaphylaktoiden-Reaktion durch parenterale Verabreichung von Eierklar^{1c)},²⁾ verhüten. Obwohl mittlerweile noch viele andere Beispiele einer derartigen gekreuzten Resistenz („cross-resistance“) beschrieben wurden^{1d, e)}, blieb der Mechanismus dieses Phänomens lange unbekannt. Erst später stellte es sich heraus, daß bei fast allen einschlägigen Fällen die Schutzwirkung auf einer Unterdrückung exsudativ entzündlicher Phänomene beruht. Derartige Äußerungen gekreuzter Resistenz konnten wir daher auf die durch Stress bedingte Erhöhung der ACTH und Glukokortikoid-Sekretion zurückführen^{1d)}.

Vor kurzem fanden wir, daß auch die unter gewissen Bedingungen bei der Ratte durch Stress hervorgerufenen infarktartigen Myokardnekrosen durch Vorbehandlung mit verschiedenen Stressoren verhütet werden können^{3a, b)}. Dies kann nicht mehr einfach auf antiphlogistische Hormonwirkungen zurückgeführt werden. Es erschien nun von prinzipieller Bedeutung, festzustellen, ob auch die durch intravenöse Injektion spezifisch kardiotoxischer proteolytischer Enzyme, z.B. durch Papain, erzeugbaren Herznnekrosen^{1d)} durch Vorbehandlung mit einem Stressor verhindert werden können.

20 weibliche Ratten des Holtzman-Stammes, mit einem durchschnittlichen Anfangsgewicht von 100g (95 bis 105g), wurden in zwei gleiche Gruppen eingeteilt. Papain (Nutritional Biochemicals) wurde als Eluat einer 10%igen wäßrigen

Lösung in der Menge von 0,1 cm³ den Ratten beider Gruppen gleichzeitig am 2. Versuchstage intravenös unter leichter Äthernarkose verabreicht. Außerdem wurden die Tiere der zweiten Gruppe am 1. Versuchstage stressiert. Als Stressor benutzten wir unsere Fesselungstechnik^{1,2}), die darin besteht, daß die Tiere am Bauch liegend während 17 Std auf ein Brett aufgespannt werden. Die überlebenden Ratten wurden 24 Std nach der Papainjektion durch Chloroform getötet und die Herzmuskel aller Tiere mit der PAS-Methode gefärbt.

Die Mortalität der nicht mit Fesselung vorbehandelten Tiere war 100%, während keine einzige der vorher dem Stress ausgesetzten Ratten einging. Makroskopisch konnte man bloß bei einigen Tieren der Gruppe 1 kleine strichförmige Myokardnekrosen von „tigroidem Charakter“ wahrnehmen, aber histologisch waren bei allen diesen Tieren sehr ausgedehnte disseminierte Herznnekrosen zu sehen, die zweifellos die Todesursache darstellten. Mit Ausnahme einer Ratte (die eine gerade noch nachweisbare miliare Nekrose aufwies) war bei den durch Stress vorbehandelten Tieren auch histologisch keine Herzveränderung feststellbar.

Diese Untersuchungen wurden mit Hilfe der „The National Heart Institute, Grant-No. H-3688 (C2)“ und der „The National Institute of Neurological Diseases, Grant-No. B-2037 (C4)“ (US Public Health Service) durchgeführt.

Institut de Médecine et de Chirurgie experimentales, Université de Montréal, Montréal, Canada

EÖRS BAJUSZ*) und HANS SELYE

Eingegangen am 29. August 1960

*) Fellow of the „Gustavus and Louise Pfeiffer Research Foundation“.

¹) SELYE, H.: a) Canad. Med. Assoc. J. 36, 462 (1937); b) Amer. J. Physiol. 122, 347 (1938); c) Endocrinology 21, 169 (1937); d) Stress beherrscht unser Leben. Düsseldorf: Econ-Verlag 1957; e) Einführung in die Lehre vom Adaptationssyndrom. Stuttgart: Georg Thieme 1953; f) The Chemical Prevention of Cardiac Necroses. New York: Ronald Press Co. 1958. — ²) LEGER, J., G. MASSON u. J. L. PRADO: Rev. Canad. Biol. 6, 359 (1947). — ³) BAJUSZ, E., u. H. SELYE: a) Amer. J. Physiol. (1960) (im Druck); b) Folia clin. internac. 10, 260 (1960).

Über den Einfluß der inaktivierenden Wellenlänge der UV-Strahlung auf die Reaktivierung von Bakteriophagen

In dieser Arbeit galt unser Interesse besonders dem Einfluß des UV-inaktivierten Bakteriophagen auf den Reaktivierungseffekt. Die photochemischen Veränderungen am Bakteriophagen sind ohne Zweifel von der Energie der inaktivierenden Strahlung abhängig. Wir untersuchten deshalb den Einfluß der inaktivierenden Wellenlänge auf den Reaktivierungsprozeß des Bakteriophagen.

Für alle Versuche wurden T1-Phagen von E. coli Stamm B benutzt. Die Phagen befanden sich im synthetischen Friedlein-Nährmedium (Ammoniumlaktat-Phosphatpuffer) mit der Konzentration von etwa 10⁷ Phagen/cm³. Die Titration erfolgte auf Friedlein-Agar-Platten. Die Bestrahlung mit den Wellenlängen 302 und 280 nm erfolgte durch einen Quarzmonochromator mit einer Quecksilberhochdrucklampe HBO 2001. Die Bestrahlung mit der Wellenlänge 254 nm wurde mit einem trichterförmig aufgewendeten Niederdruckbrenner HNU 6 in Verbindung mit einem Chlor-Brom-Filter und einem UG 5 durchgeführt. Zur Dosismessung diente eine absolut geeichte großflächige Mollsche Thermosäule in Verbindung mit einem Skalengalvanometer. Die Reaktivierung erfolgte durch Bestrahlung des aus Bakterien und Phagen bestehenden Oberflächenrasens auf Testplatten mit einem Quecksilberhochdruckbrenner U 500, dessen inaktivierender UV-Anteil durch 8 mm Fensterglas ausgefiltert wurde.

Aus ein und derselben Ausgangssuspension von extrazellulären Bakteriophagen wurden Proben entnommen und jeweils einer Strahlung der Wellenlänge 302, 280 oder 254 nm exponiert. Zur Bestimmung der Überlebenden nach der Bestrahlung erfolgte eine Aufteilung der bestrahlten Proben in zwei Fraktionen. Bei der ersten Fraktion wurden die Phagen bei Gelblight mit Bakterien gemischt, auf Platten gebracht und anschließend im Dunkeln bei 37° bebrütet, d.h., die Bestimmung der Konzentration der aktiven Phagen ging unter Vermeidung der Photoreaktivierung vonstatten. Die zweite Fraktion der gleichen Probe erhielt dagegen eine starke Reaktivierungsbehandlung durch Blaulicht. Die durch den Plattentest ermittelte Phagenkonzentration ist höher als bei der ersten Fraktion, denn sie resultiert aus den Überlebenden,

also nicht UV-geschädigten, und den reaktivierten Phagen (Überlebende + Reaktivierte).

Die Phagenkonzentration des ersten Plattentestes enthält dagegen nur die nicht UV-Geschädigten (Überlebende). Als Maß für die Größe der Reaktivierung bestimmten wir jeweils den Quotienten aus der zweiten und ersten Fraktion, also $1 + (\text{Reaktivierte}/\text{Überlebende})$.

In Fig. 1 ist dieser Wert als Ordinate und als Abszisse der log der %-Zahl der Überlebenden dargestellt. Man erkennt, daß bei der inaktivierenden Wellenlänge von 302 nm der Anstieg der Reaktivierung am stärksten ist. Bei dieser Wellenlänge wird also die schonendste Inaktivierung, die am leichtesten durch Blaulicht reparabel ist, vorgenommen. Bei Bestrahlung mit der Wellenlänge 254 nm erhält man bei gleicher Kurvencharakteristik einen schwächeren Anstieg. Diese UV-Schäden sind also schlechter reparabel als die ersteren. Unter dem inaktivierenden Einfluß der Wellenlänge 280 nm ergibt sich bis zu einer Überlebensrate von etwa 2% ein normaler Verlauf der Reaktivierung, dann verändert sich jedoch die Kurvencharakteristik, und die Reaktivierung nimmt ab. Da bei der Wellenlänge 280 nm das Maximum einer Absorptionsbande des Proteins

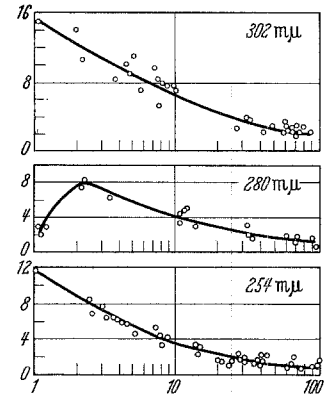


Fig. 1. Photoreaktivierung von T1-Bakteriophagen nach inaktivierender Strahlung der Wellenlängen 302, 280 und 254 nm. Abszisse: %-Zahl der Überlebenden (logarithmische Skala). Ordinate: $1 + (\text{Reaktivierte}/\text{Überlebende})$

liegt, kann man annehmen, daß die Veränderung der Charakteristik der Photoreaktivierung für große Dosen dieser Wellenlänge vorwiegend auf eine Denaturierung des Phagenproteins zurückzuführen ist. Der Denaturierungseffekt macht sich bei kleinen Dosen entweder nicht bemerkbar, oder er ist ebenfalls photoreversibel.

Eine ausführliche Diskussion erfolgt in den Monatsber. der Dtsch. Akad. Wiss.

Wir danken Fräulein INGEBORG EBERT und Herrn HANS BARONIK für die wertvolle Hilfe bei der experimentellen Durchführung dieser Arbeit.

Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Physikalisch-Technisches Institut, Bereich Strahlungsanwendung, Institut für Medizin und Biologie, Arbeitsbereich Physik, Berlin

W. ESCHKE, W. ECKART und R. WETZEL

Eingegangen am 25. August 1960

Veränderungen des endoplasmatischen Reticulums pflanzlicher Zellen, verursacht durch Sauerstoffmangel

Elektronenmikroskopische Untersuchungen entdeckten in pflanzlichen Zellen Gebilde, die analog jenen in tierischen Zellen als endoplasmatisches Reticulum (ER) bezeichnet wurden. Dieses endoplasmatische Reticulum ist bei pflanzlichen Zellen, im Vergleich mit jenem bei tierischen Zellen, namentlich tierischen Drüsenzellen, jedoch meistens nur schwach entwickelt^{1,2}). Durch die vorliegenden Untersuchungen konnte aber gezeigt werden, daß unter besonderen Umständen das ER auch bei Pflanzen erheblich ausgebildet werden kann.

Während verschiedener Versuche über Zellnekrobiose, die in unserem Laboratorium eingehend untersucht wird, wurden pflanzliche Gewebe (namentlich Vegetationskegel von *Elodea canadensis* und Wurzelspitzen von *Sinapis alba*) längere Zeit (2 bis viele Stunden — abhängig vom Objekt) in einer CO₂- oder N₂-Atmosphäre bzw. im abgekochten Wasser, d.h. ohne Sauerstoffzutritt gehalten. Der geeignete Zeitpunkt für die Fixierung wurde lichtmikroskopisch festgestellt. Sobald die Plasmaströmung in den Zellen aufhörte, wurden die einzelnen Objekte fixiert und in Plexiglas eingebettet³). Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen der Dünnschnitte solcher Objekte zeigten überraschende Bilder von auffallend stark entwickeltem ER. Es entstehen dabei ganze Pakete von mehreren bis vielen meist mehr oder weniger parallelen ER-Zisternen, die sich in langen Zügen durch das Cytoplasma erstrecken. In günstigen Fällen wurden Schnitte durch Zellen getroffen,